Aus der Gastherapeutischen Abteilung der Militärärztlichen Akademie Berlin.
Leiter: Oberstarzt Dozent Dr. Muntsch.

Ueber die Einwirkung von Dichlordiäthylsulfid auf das Bakterium coli

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an der Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Berlin.

Vorgelegt von

Otto Koch

aus Minden (Westf.).

Tag der Promotion: 15. November 1938.

1938

Druck: Lengericher Handelsdruckerei, Lengerich i. W.

M 321

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Berlin.

Dekan: Prof. Dr. med. Siebeck.
Referent: Doz. Dr. med. Muntsch.
Korreferent: Prof. Dr. med. Zeiss.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Im Jahre 1933 erschien eine Arbeit von Kirby E. Jackson, chemische Abteilung in der Vanderbilt-Universität, Tenesse, über ß,ß'-Dichloräthylsulfid (Mustard Gas) (1). In ihr sind einige interessante Bemerkungen über die Anwendung dieses so gefürchteten Giftstoffes enthalten. Man benutzt ihn danach zur Vernichtung des mexikanischen Bohnenwurms (Epilachna corrupta Muls.). Vermischt man 0,01% des Sulfids mit etwas Äther und zerstäubt diese in Kohle adsorbierte Mischung über die Felder, dann wird der Schädling in einer Zeit von 3 bis 6 Stunden getötet. In ähnlicher Weise wird Dichlordiäthylsulfid bei der Bekämpfung des Baumwollsamenwurms (Anthonomus grandis Boh.) angewandt. Jackson stellt weiterhin fest, daß bis zu 16% Dichlordiäthylsulfid an Kohle keine Schädigung der Pflanzen hervorruft. Diese Angaben gaben die Anregung, festzustellen, ob eine Wirkung von Senfgas auch auf Bakterien zu konstatieren ist.

Zum besseren Verständnis der Versuche erscheint es angebracht, einen kurzen Überblick über die Eigenschaften des Lost zu geben.

Dichlordiäthylsulfid ist eine schwere, etwas ölige Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 1,28 bei 15° C. Wichtig für die Versuche sind weiterhin die ausgesprochene Durchdringungskraft und die fast vollkommene Unlöslichkeit im Wasser. Die geringe Menge, die gelöst wird, genügt aber doch, um Vergiftungserscheinungen hervorzurufen. Nach Muntsch (2) geht ein Teil (etwa 1 g pro 1 l H_2O) in Lösung. Diese geht gleich in Hydrolyse über, was bei 20° C. ungefähr 30 Minuten dauert. Löslich dagegen ist Lost in allen pflanzlichen und tierischen Ölen. Von den organischen Lösungsmitteln benutzt man Benzol, Äther, Tetrachlorkohlenstoff u. ä. Über den Mechanismus der Wirkung herrschen zum Teil noch gegensätzliche Anschauungen. Ich will mich beschränken, nur einige zu erwähnen. Flury (3) spricht die Wirkung der Bildung von Salzsäure zu. Das Dichlordiäthylsulfid dringt infolge seiner

starken Lipoidlöslichkeit in die Zelle ein und wird dort hydrolytisch zersetzt. Als Spaltprodukte entstehen folgende:

$$(Cl\ C\ H_2\ C\ H_2)_2 S + 2H_2\ O = 2\ H\ Cl + (H\ O\ C\ H_2\ C\ H_2)_2 S.$$

Das letztere, Thiodiglykol, ist völlig unwirksam und fällt für die Schädigung aus, während dann aber der entstehenden Salzsäure die starke Wirksamkeit zugesprochen werden muß. Die betreffenden Zellen erleiden eine dauernde Schädigung und werden zum Absterben gebracht. Bei anderen Zellen wird die Widerstandsfähigkeit für lange Zeit herabgesetzt. Heubner nennt diesen Vorgang „Pathobiose". Da der entstehende Chlorwasserstoff eine sehr starke Affinität zu Wasser besitzt, wird dieses dem Gewebe entzogen und so die Ödembildung hervorgerufen. Der Einwand gegen diese Theorie besteht darin, daß nur sehr geringe Mengen von Salzsäure gebildet werden, die Veränderungen dagegen einen viel stärkeren Grad zeigen. Flury selbst erwähnt dieses schon und gibt deshalb noch eine Oxydationswirkung zu.

Eine ganz andere Ansicht vertritt der Amerikaner Allen (2). Bei ihm finden wir die Behauptung, daß der Kampfstoff eine Reaktion mit den Aminosäuren des Zelleiweißes eingeht. Hierbei kommt es dann zu einer festen, irreversiblen Verbindung, die den Stoffwechsel der Zelle empfindlich beeinflußt und beeinträchtigt. Besonders die Bildung von Geschwüren wird auf solche Reaktion zurückgeführt. Unveröffentlichte Versuche von Muntsch und Sturm (2) sollen diese Theorien bewiesen haben. Munsch stellt Lost in die gleiche Reihe mit anderen Zellgiften, von denen neuere Untersuchungen ergeben haben, daß sie Fermentgifte sind. Wir finden noch eine dritte Theorie bei Flury, indem er sagt, daß „Dichlordiäthylsulfid als ganzes Molekül, und zwar im Sinne eines Kapillargiftes", wirkt. Er stellt sich eine abnorme Durchlässigkeit und Schädigung der Kapillaren vor. Daraus resultiert Flüssigkeitsaustritt und Blasenbildung auf der Haut. In den Atemwegen finden wir Fibrinauflagerungen.

Jeder Versuch endete jedesmal dahin, daß vor und nach Einwirkung des Lost eine Prüfung der biochemischen Eigenschaften vorgenommen wurde. Von den Eigenschaftsveränderungen sollte dann auf den Grad der Wirkung geschlossen werden. Zu den Versuchen wurden Colibakterien verwandt. Die Reaktion des Zelleibes beschrieb K. v. Angerer als alkalisch im Gegensatz zu höheren pflanzlichen Formen. Auch wenn sie aus Zucker Säuren bilden, bleibt die Reaktion

unverändert. Die chemische Zusammensetzung besteht aus Eiweiß, Kohlehydraten, Fetten, Salzen und Stoffwechselprodukten. Umgeben sind die Bakterien von einer Schicht, bei der von Angerer zwei Bestandteile unterscheidet: Die dünne Bakterienmembran und die schwer färbbare und schwach lichtbrechende Schleimschicht.

Das Bakt. coli wächst aerob besser als anaerob. Die Kulturen auf der Agarplatte haben eine weinblattähnliche Form. Man hat eingehende Versuche beschrieben, um das Verhalten der Colistämme gegenüber Kohlehydraten und mehrwertigen Alkoholen zu prüfen. Hierbei griffen die Versuchsstämme aktiv in den Prozeß ein, wobei eine große Anzahl von Stoffen unter Säure- und Gasabspaltung zerlegt wurde. Man fand dies für Milchzucker, Traubenzucker u. a. zutreffend. Diese Eigenschaften waren dann auch weiter differentialdiagnostisch zu verwerten. Milchzucker- und Traubenzuckeragar wird unter lebhafter Gasabspaltung gesprengt. Durch die Säurebildung kam Endo auf den Gedanken, eine besonders auf Colibakterien zugeschnittene Agarplatte zu schaffen. Er verwandte hierzu Fuchsinsulfitmilchzucker-Agar. Der von Marpmann (7) vorgeschlagene Fuchsinagar wurde durch Zusatz von Natriumsulfit farblos gemacht. Dieses farblose fuchsinschwefligsaure Natron ist als Reagens auf Aldehyde bekannt. Wird nun durch Bakterien der im Nährboden enthaltene Milchzucker in Aldehyde und Säuren gespalten, erfährt der Agar wieder eine Rotfärbung, die bis in die Bakterienkulturen hineinreicht. Man hat jetzt zum allgemeinen Nachweis der Colibakterien folgende Methoden: Der Fuchsinmilchzucker-Agar von Endo, die Lackmusmolke nach Petruschky und die Trauben- und Milchzuckervergärung. Hinzurechnen kann man noch die Beweglichkeit der einzelnen Stäbchen. Einen allgemeinen großen diagnostischen Wert hat sie allerdings nicht, da man auch eine große Anzahl von Stämmen ohne Beweglichkeit kennt. Bei Nißle (5) finden wir, daß Colibakterien aus alten Sammlungskulturen, sogar auch frisch gezüchtete Stämme, erst nach mehrmaligem Umzüchten beweglich werden. Sind bei einem zu untersuchenden Stamm diese Proben positiv, dann handelt es sich mit Sicherheit um einen Colistamm. In den angestellten Versuchen wurden diese Eigenschaftsproben jedesmal vorgenommen. Für die Versuche wurde ein Stamm aus dem Stuhl eines Erwachsenen frisch gezüchtet. Er erwies sich als sehr widerstandsfähig und konnte sogar eine Erhitzung bis auf 50° ertragen. Dabei wurden seine Eigenschaften nicht beeinträch-

tigt. Eine Entwicklungshemmung, wie sie A. Nißle (5) beschreibt, war nicht festzustellen.

Die Methode der Wahl zur Prüfung des Dichlordiäthylsulfids auf die Bakterien war die Deckglasmethode nach Jensen. Diese war insofern leicht zu verwerten, da hierbei eine größere technische Schwierigkeit infolge der besonderen Gefährlichkeit des Lost nicht bestand. Zu einer 24stündigen Colikultur wurden 5 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung gegeben. 1 Tropfen von dieser Flüssigkeit wurde auf ein steriles Deckglas geimpft. Die Deckgläschen mit den angetrockneten Bakterien wurden dann der Einwirkung der verschiedenen Konzentrationen von Dichlordiäthylsufid ausgesetzt. Als Verdünnungsmittel mußte natürlich ein solches verwandt werden, welches selbst keine bakterizide Wirkung aufweist. Alkohol und Äther kamen aus diesem Grunde nicht in Frage. Die Versuche wurden deshalb mit Benzol angestellt. Außer dem Colistamm wurde zur Prüfung noch ein Stamm von Staphylokokken benutzt, um die bakterizide Wirkung allgemein ausschließen zu können. F. Ischiwara (6) hat ähnliche Versuche angestellt und kam zu denselben Resultaten. Alkylamidoderivate des Benzols hatten keine bakterizide Wirkung, dagegen waren die Hydroxylderivate sehr stark wirksam. Benzol und Methan selbst behinderten das Wachstum nicht. Die eigenen angestellten Versuche ergaben folgendes Bild:

Coli	Minuten						Stunden			
	0,5	1	3	5	15	30	1	2	3	4
Benzol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K V_1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K V_2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Sta.	Minuten						Stunden			
	0,5	1	3	5	15	30	1	2	3	4
Benzol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K V_1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K V_2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Beide Stämme zeigten das gleiche Resultat. Nirgends war eine Abtötung festzustellen. Zur Kontrolle wurden zwei Versuche mit unverändertem Coli gemacht (K V_1 und K V_2). Die Röhrchen der behandelten Colikultur waren von den Kontrollversuchen nicht zu unterscheiden. Da aber der eine Versuch nicht maßgebend sein konnte, wurden noch mehrere angestellt, zumal von dem Ausfall dieser Proben die ganzen Hauptversuche abhängig waren:

Coli	Minuten						Stunden				
	0,5	1	3	5	15	30	1	2	3	4	5
Benzol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K V_1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K V_2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Sta.	Minuten						Stunden				
	0,5	1	3	5	15	30	1	2	3	4	5
Benzol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K V_1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K V_2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Einwirkungszeiten wurden um 1 Stunde verlängert. Auch bei den Versuchen trat überall Wachstum ein. Vier noch einige Zeit später angesetzte Versuche ergaben die gleiche negative Wirkung des Benzols auf die Bakterien. Man kann demnach auf Grund der eigenen und auch der schon beschriebenen Versuche von Ischiwara dem Benzol eine bakterizide Wirkung absprechen. Auch eine Hydrolisierung des Benzols findet nicht statt, wodurch der p_H-Wert sehr tief liegt. Scheer (5) hat festgestellt, daß ein p_H von 4,6 bzw. 9,4 genügt, um die Colibakterien abzutöten.

Da nun Benzol als Verdünnungsmittel für Dichlordiäthylsulfid bekannt ist, schien dieses am geeignetsten, den weiteren Versuchen als Verdünnungsmittel zu dienen. Mit einem empfindlichen Laboratoriumsstamm wurden vorerst noch einige grobe Tastversuche mit konzentriertem Lost angestellt. Als Bezeichnung der einzelnen Versuchsreihen wurden die Buchstaben des Alphabets benutzt:

A_1	Minuten					Stunden						
	1	3	3	15	30	1	2	3	4	5	6	7
konz.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Der Kontrollversuch mit unbehandelten Bakterien ergab ein Wachstum, während nach einer einstündlichen Einwirkung des Lost kein Wachstum zu sehen war, die Bouillonröhrchen waren klar geblieben. Auch nach 10 Tagen Aufenthalt im Brutschrank bei 37° war eine Änderung in dem Ergebnis nicht festzustellen. Wohl waren im Laufe der Tage einige Verunreinigungen hinzugetreten, die in ihrem Wesen leicht nach Überimpfung auf Agarplatten festgestellt werden konnten. In der Hauptsache handelte es sich um verschiedene Arten von Kokken.

Zwei weitere Versuche zeigten überraschende Ergebnisse:

A_2	Minuten					Stunden										A_3	Minuten				Stunden			
	1	3	5	15	30	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		1	3	5	15	1	2	3	4
Konz.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Konz.	—	—	—	—	—	—	—	—
KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KV	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Kontrollversuche waren selbstverständlich immer bewachsen. In den beiden Reihen dagegen blieb jegliches Wachstum aus. Sogar die Einwirkung von 1 Minute hatte scheinbar genügt, die Colibakterien abzutöten. Auch nach 10 Tagen

hatte sich hierin nichts geändert. Ein vierter Versuch komplizierte das Bild noch mehr:

A_4	Minuten					Stunden	
	1	3	5	15	30	1	2
konz.	+	+	+	—	+	+	—
KV	+	+	+	+	+	+	+

Makroskopisch war ein Ausfall der Trübung bei 15 Minuten und 2 Stunden zu finden. Hier war scheinbar eine Abtötung erfolgt. Von den getrübten Bouillonröhrchen wurde dann eine Nadelspitze auf Endoagar überimpft. Nach 24 Stunden im Brutschrank gab es überraschende Befunde. Die Coli zeigten nicht das übliche Wachstum mit Goldglanz und Rotfärbung des Agars, sondern sie waren auffallend blaß. Dagegen waren die Verunreinigungen wie Kokken und „Luftstäbchen" rot gefärbt. Natürlich lag der Verdacht sehr nahe, daß die Eigenschaften der Bakterien durch die Einwirkung des Dichlordiäthylsulfids verändert worden seien. Weitere Versuche in dieser Richtung sollten zur Klärung der Beobachtungen führen. In diesem Zusammenhang ist es wohl angebracht, einige Erklärungen zu den Verunreinigungen zu geben. Wenn hin und wieder von solchen Fehlerquellen gesprochen wird, so liegt das in der Natur der Sache. Es mußte mit Absicht darauf verzichtet werden, vollkommen steril zu arbeiten. Die Pinzette wurde selbstverständlich vorher ausgeglüht und dadurch von allen Keimen befreit. Es dauerte aber erst längere Zeit, bis sie sich wieder abgekühlt hatte. Ein erhitztes oder erwärmtes Instrument hätte Lost zur Verdampfung gebracht, was unter allen Umständen vermieden werden mußte. Noch stärker hätte sich die Verdampfung bei den verschiedenen Verdünnungen bemerkbar gemacht. Ein Abkühlen der Pinzette in Aqua dest. war ebenfalls für die Erhaltung der Konzentration unmöglich. Es wäre eine Änderung der Konzentration eingetreten und die Ergebnisse fehlerhaft ausgefallen. Lost selbst, aber auch das Benzol, konnten nicht keimfrei gemacht werden. Aus diesen erwähnten Gründen war es keinesfalls zu vermeiden, daß einige Verunreinigungen auf der Agarplatte in Erscheinung traten.

Ein einigermaßen klares Bild über den Verlauf und die Anordnung der Hauptversuche war nun gegeben. Deshalb wurden die Proben mit konzentriertem Lost abgeschlossen. Wir konnten uns nun der Verdünnung 1:2 zuwenden. Auch dies galt nur als Tastversuch. Wegen der besseren Arbeits-

einteilung machte man von nun an mindestens zwei Versuche zur gleichen Zeit. Diese sind in den folgenden Tabellen ständig zusammen erfaßt:

B_1	Minuten					Stunden				B_2	Minuten					Stunden			
	1	3	5	15	30	1	2	3	4		1	3	5	15	30	1	2	3	4
1:2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1:2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Man sieht hier ein ähnliches Ergebnis wie bei A_1 und A_2. Das Wachstum ist bei allen Einwirkungszeiten ausgeblieben. Bei den unbehandelten Cilokulturen trat starke Trübung der Bouillon ein. Es konnte demnach nicht an der Kultur oder an einem Versuchsfehler liegen. Die nächsten Versuche zeigten eine kleine Abschwächung der Wirkung:

B_3	Minuten					Stunden					B_4	Minuten					Stunden				
	1	3	5	15	30	1	2	3	4	5		1	3	5	15	30	1	2	3	4	5
1:2	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	1:2	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Die bakterizide Kraft von Lost ist nicht so stark wie in den vorhergehenden Prüfungen. Nach 1 Minute und nach 3 Minuten war es noch nicht fähig, die Bakterien abzutöten. So finden wir nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° noch eine Trübung der Bouillon. Der Unterschied gegenüber B_4 ist nicht sehr groß. Zwei weitere Versuche hatten ähnliche Resultate, nur, daß das Leben der Bakterien noch nach einer Behandlung von 5 Minuten zu finden war. Durch die bis jetzt angestellten Versuche mußte man zu der Ueberzeugung kommen, daß das Bakt. coli sich dem Dichlordiäthylsulfid gegenüber sehr labil verhielt und nicht immer gleichmäßig anspricht. Trotzdem mehrere Versuche unter den gleichen Bedingungen ausgeführt wurden, war die Reaktion verschieden. R. Hanne (10) macht dieselbe Erfahrung bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln. Er versucht diese Erscheinung zu klären, indem er glaubt, daß von der verhältnismäßig großen Anzahl von Bakterien, denen die Desinfektionsflüssigkeit einverleibt wird, einige schneller und einige langsamer zum Absterben kommen. Besonders macht sich das bei den alten Laboratoriumsstämmen bemerkbar. A. Nißle (5) hat Ähnliches beobachtet. Er gibt zu, daß die Eigenbewegungen des Coli bei alten Stämmen aufgehört haben und erst wieder durch mehrmaliges Umzüchten erreicht werden können. Wenn es darauf ankommt, die Eigenschaften bei einem Stamm

zu erhalten, so empfiehlt er alle 4 Wochen eine Umzüchtung. Dadurch beweist er dann, daß nur ein frischer Stamm seine Eigenschaften behält. Aus diesem Grunde war es notwendig, für die Versuche einen frisch gezüchteten Stamm zu benutzen. Die Fehlerquellen wurden dadurch auf das Mindestmaß herabgedrückt, und die Versuche haben dann auch ein einigermaßen konstantes Bild ergeben. Um die Vervollständigung so weit wie möglich zu gestalten, wurden von jeder Versuchsreihe mindestens 10 Versuche gemacht. Wo auch diese noch nicht genügten, wurden noch einige weitere hinzugefügt.

A_1	Minuten					Stunden			
	1	3	5	15	30	1	2	3	4
konz.	+	+	+	+	+	+	+	—	+
K V	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A_1	Minuten					Stunden			
	1	3	5	15	30	1	2	3	4
T	+	+	+	+	+	+	+	—	+
M	+	+	+	+	+	+	+	—	+
L	+	+	+	+	+	+	+	—	+
G	+	+	+	+	+	+	+	—	+

A_2	Minuten					Stunden			
	1	3	5	15	30	1	2	3	4
konz.	—	+	+	+	+	+	+	—	+
K V	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A_2	Minuten					Stunden			
	1	3	5	15	30	1	2	3	4
T	—	+	+	+	+	+	+	—	+
M	—	+	+	+	+	+	+	—	+
L	—	+	+	+	+	+	+	—	+
G	—	+	+	+	+	+	+	—	+

Als Grenze der Einwirkung sehen wir zuerst 4 Stunden. Hier war aber noch in beiden Reihen eine Besiedlung der Röhrchen vor sich gegangen. Man konnte allerdings keine Keimtötung bei 3 Stunden feststellen. Daß außerdem A_2 bei 1 Minute nicht bewachsen war, sei nur nebenbei erwähnt. Die „bunte" Reihe mit den Proben für Coli-Bestimmung ergab keine Änderung im Sinne einer Umstimmung der Bakterien. Trauben- und Milchzucker-Agar wurden durch die aktive Säure- und Gasbildung der Bakterien gesprengt. Die Lackmusmolke erfuhr eine Rotfärbung durch die entstandene Säure, während man auf Endoagar die Kolonienbildung in ihrer typischen Weinblattform mit Goldglanz sah. Die Eigenschaftsproben waren also so ausgefallen, wie es auch bei einem normalen Stamm hätte sein müssen. Die nächsten Versuche wurden bis zu 7 Stunden ausgedehnt:

A_3	Minuten					Stunden						
	1	3	5	15	30	1	2	3	4	5	6	7
konz.	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+
K V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A_4	Minuten					Stunden						
	1	3	5	15	30	1	2	3	4	5	6	7
konz.	+	+	—	+	—	+	+	+	—	—	+	+
K V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Das Ergebnis war nun sehr wechselnd. Inmitten von bewachsenen Röhrchen erscheinen plötzlich einige Ausfälle. Ja, nachdem das Wachstum sogar für mehrere Stunden ausgeblieben war, finden wir dann wieder das Erlahmen der bakteriziden Kraft oder eine größere Widerstandsfähigkeit der Bakterien bei 7 Stunden, so daß eine starke Trübung der Bouillon festzustellen ist. Der Versuch A_4 ist nicht ganz übereinstimmend mit A_3, zeigt aber im großen und ganzen gleiche, verwertbare Resultate. Die bisherigen Versuche haben eindeutig ergeben, daß nur eine minutenlange Einwirkung von Dichlordiäthylsulfid keine abtötende Wirkung nach sich zieht. Deshalb konnte ich nun dazu übergehen, die obere Einwirkungsdauer etwas genauer zu betrachten.

A_5	Minuten		Stunden									
	15	30	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
konz.	−	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A_6	Minuten		Stunden									
	15	30	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
konz.	−	−	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−
KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

In beiden Anordnungen hat keine regelmäßige Abtötung stattgefunden. Eine Lebensfähigkeit der Coli läßt sich nach 4 Stunden nicht mehr feststellen. In 6 weiteren Versuchen blieb die Regelmäßigkeit der Ergebnisse aus, wie es schon des öfteren beim Bakt. coli beobachtet wurde. Die Wirkungszeit des Dichlordiäthylsulfids war bis zu 8 Stunden zu verfolgen, wie aus einer Zusammenstellung der restlichen Reihen zu ersehen ist:

konz.	Stunden							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A_7	+	−	−	+	+	−	−	+
A_8	+	+	−	+	+	+	−	−
A_9	+	+	+	+	−	−	+	+
A_{10}	+	−	+	+	−	−	+	+
A_{11}	+	+	+	−	−	−	−	−
A_{12}	−	−	−	−	+	−	−	+

Auf irgendeine Art und Weise waren die Bakterien zum Absterben gebracht. Weshalb die Zeit eine so lange war, läßt sich wohl folgendermaßen erklären: In ihren Untersuchungen über die bakterizide Wirkung von ätherischen Ölen stellen H. O. Hettche und P. Rosenthal (9) fest, daß eine Umspülung der Bakterien durch eine Emulsion sehr träge ist und dadurch die Abtötung sehr langsam vor sich geht. Da nun Lost eine ölige Flüssigkeit ist, kann man diese Betrach-

tung wohl ebenfalls auf meine Versuche übertragen. Hettche und Rosenthal behaupten sogar noch, daß eine Prüfung mit unverdünnten Ölen wegen der schlechten Benetzbarkeit nicht möglich sei. Diese Behauptung konnte ich allerdings nicht teilen in bezug auf Dichlordiäthylsulfid. Wie die Versuche mit konzentriertem Lost gezeigt haben, erfolgt eine Abtötung der Bakterien in einem Zeitraum bis zu 8 Stunden Einwirkung. Im Laufe dieser Zeit ist es dem Lost gelungen, infolge seiner Lipoidlöslichkeit in den Zelleib zu dringen. Dort konnte es dann seine Wirkung ausüben.

Nachdem wir nun die Wirkung des konzentrierten Lost festgestellt haben, können wir uns der nächsten Versuchsreihe B in der Verdünnung 1:2 zuwenden.

B_1	Minuten		Stunden							
	15	30	1	2	3	4	5	6	7	8
1:2	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—
KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

B_2	Minuten		Stunden							
	15	30	1	2	3	4	5	6	7	8
1:2	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Beide Versuche sind ziemlich übereinstimmend. Sie wurden bei 15 Minuten begonnen, um ganz grob die obere Einwirkungszeit zu erfahren. Hier sieht man bei 2 Stunden das letzte Wachstum. Die Eigenschaften der Colibakterien sind unverändert geblieben. Auf der Endoplatte wurden mittelgroße Kolonien mit Goldglanz gebildet. Im Zentrum ist eine Rotfärbung zu beobachten, während die Peripherie deutliche Schleimbildung zeigt. Dies ist aber an sich nicht regelwidrig. Schon nach diesen beiden Versuchen ist folgendes festzustellen: Das Dichlordiäthylsulfid hat nur bis zu einer gewissen Zeit eine bakterizide Wirkung, hat aber nicht durch Umbau des Zelleibes eine Änderung in der Natur des Bakteriums hervorgerufen. Weitere Versuche sollen uns nun an die Grenzzeit näher heranbringen:

B_3	Minuten		Stunden						
	15	30	1	2	3	4	5	6	7
1:2	+	+	—	—	—	—	—	—	—
KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+

B_4	Minuten		Stunden						
	15	30	1	2	3	4	5	6	7
1:2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
KV	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Der Versuch B_3 deckt sich ziemlich mit den vorhergehenden. Dagegen ist schon in B_4 bei 15 Minuten keine Ausbreitung der Keime mehr zu sehen. Trotz dieser kleinen Unstimmigkeiten ist aber jetzt schon ein grundsätzlicher Unterschied gegenüber dem konzentrierten Lost zu bemerken. Auf diese Erscheinung muß noch näher eingegangen werden.

B_5	Minuten		Stunden			
	15	30	1	2	3	4
1:2	–	+	–	–	–	–
KV	+	+	+	+	+	+

B_6	Minuten		Stunden			
	15	30	1	2	3	4
1:2	–	+	–	–	–	–
KV	+	+	+	+	+	+

In beiden Tabellen ist eine Bestätigung der vorigen Angaben zu erblicken. Nach 30 Minuten Einwirkung sind die Colibakterien noch nicht geschädigt bzw. abgetötet, so daß ihnen die Möglichkeit gegeben ist, in der Nährbouillon zu wachsen und sich zu vermehren. Dann ist aber die Wirkung von Senfgas so stark geworden, daß die Lebensbedingungen für die Coli unmöglich geworden waren. Die nun folgenden Versuche sollten noch einmal die Erscheinungen unter einer Stunde prüfen.

1:2	Minuten					Stunden				
	1	3	5	15	30	1	2	3	4	5
B_7	–	–	–	+	+	–	+	–	–	–
B_8	+	+	+	+	+	+	+	+[1]	–	–
B_9	–	+	+	+	+	+	+	–	–	–
B_{10}	–	+	–	+	–	–	–	–	–	–

[1] Nach 48 Stunden Brutschrank.

Da ergab sich nun, daß in allen Experimenten eine keimabtötende Wirkung bis zu 2 Stunden nicht zu bemerken war. In einem Falle wuchsen allerdings die Bakterien noch bei 3 Stunden, was man als Entwicklungshemmung bewerten kann.

Nachdem die Kulturröhrchen 24 Stunden bei 37° im Brutschrank gestanden hatten, waren sie nur bis zur 2-Stunden-Einwirkung bewachsen. Einen Tag später, also 48 Stunden Brutschrank, war auch das 3-Stunden-Röhrchen getrübt. Im Laufe von 48 Stunden hatten sich erst die Coli erholen können, um zu wachsen. Wie ich schon erwähnte, liegt die Einwirkungsgrenze des verdünnten Lost 1:2 tiefer als bei technisch reinem, der bei allen Versuchen benutzt wurde. Meines Erachtens kommt dieses folgendermaßen zustande: Durch die Verdünnung mit Benzol ist das Lost erst gelöst und dadurch dünnflüssiger geworden. Die Umspülung der Bakterien ist demnach besser geworden. Das Benzol wird vom Dichlordiäthylsulfid als „Wegbereiter" benutzt, der den Weg in das Bakterium ebnet. Wie mit Hilfe eines Schlittens gleitet das Lost in die Zelle hinein. Da dieser Vorgang viel schneller vor sich geht, als bei der trägen Umspülung mit der konzentrierten Flüssigkeit, ist es klar zu verstehen, daß auch die Abtötung in einer kürzeren Zeit vonstatten gehen muß.

Nachdem durch die B-Reihe verhältnismäßig gute Übersicht gegeben war, wurde die Konzentration 1:4 gewählt. Sie hatte nachstehendes Ergebnis zur Folge:

1:4	Minuten		Stunden					
	15	30	1	2	3	4	5	6
C_1	+	+	—	—	—	—	—	—
C_2	+	—	—	—	—	—	—	—
C_3	—	—	—	—	—	—	—	—
C_4	—	—	—	—	—	—	—	—
C_5	—	—	—	—	—	—	—	—
C_6	+	—	—	—	—	—	—	—
C_7	+	+	—	—	—	—	—	—
C_8	—	—	—	—	—	—	—	—
C_9	+	+	+	—	—	—	—	—
C_{10}	+	+	—	—	—	—	—	—
C_{11}	+	+	—	—	—	—	—	—
C_{12}	—	+	+	—	—	—	—	—

Man findet ein ziemlich abgeschlossenes Ganzes. Von 12 Versuchen haben 4 Fälle nach 15 Minuten schon kein Leben mehr gezeigt. Auch nach längerer Beobachtung der Röhrchen bemerkte man keine Änderung im Verhalten der Bakterien. Im allgemeinen lag die Grenze der keimabtötenden Wirkung bei 30 Minuten bis zu 1 Stunde. Es wurde mit der größten Vorsicht gearbeitet, um alle Fehlerquellen ausschließen zu können. Sogar einige Versuche, die nach einem halben Jahr wiederholt wurden und die ersten Beobachtungen bekräftigen sollten, hatten gleiche Resultate. Die vier letzten Reihen hatten als Ziel, die Keimabtötung unter 30 Minuten zu prüfen. Ohne Unterschied gab es hier eine Trübung der Bouillon. In dieser Zeitspanne genügt die Umspülung mit der bakteriziden Flüssigkeit nicht, um voll wirksam zu werden. Bei dieser Abtötungsmethode genügt ja noch ein überlebendes Bakterium, damit später eine allgemeine Lebensfähigkeit vorgetäuscht wurde. In einem Versuch stellte sich das Wachstum erst nach einem 48stündigen Aufenthalt im Brutschrank ein. Eine große Bedeutung für den Wirkungsmechanismus hat es nicht. Selbstverständlich wurden die getrübten Bouillonröhrchen darauf geprüft, ob es sich in jedem Falle um echte Colibakterien handelte. Wie immer wurde dazu die „bunte" Reihe verwandt. Traubenzucker-, Milchzuckeragar und Lackmusmolke wurden entsprechend geändert. Die Beweglichkeit der einzelnen Bakterien war nicht eingeschränkt. Auf der Endoplatte sah man Kolonien mit einem sehr schwachen Goldglanz. Man kann diese Erscheinung wohl schon eine Ab-

schwächung vom Normalen nennen. Allzu bedeutungsvoll ist das aber nicht zu bewerten, da dabei eine große Anzahl von Gesichtspunkten mitspielt. Es genügt schon ein nicht genau eingehaltener p_H-Wert der Agarplatte, um die Kolonien in ihrem Aussehen zu ändern. Auf anderen Platten waren einige mittelgroße Kolonien, bei denen eine schwache Entfärbung eingetreten war. Sie zeigten nicht, wie es bei den Kontrollversuchen in Erscheinung trat, eine rote Fuchsinfarbe mit Goldglanz, sondern waren nur blaß gefärbt. Wieder andere Endoplatten wiesen kleine, normal gewachsene Kolonien auf. Am Rande einer jeden Kolonie konnte man eine deutliche Schleimzone feststellen. Bei einigen war diese Zone besonders stark ausgeprägt, und andere wiederum wiesen nur Andeutungen auf. Auf der 5-Minuten-Platte der C_9-Reihe sah man große, gut ausgebildete Kolonien in Weinblattform mit einem deutlich sichtbaren Goldglanz. In der Mitte jeder Kolonie waren rote Punkte gebildet worden. Sonst waren durch diese Versuchsreihen in der Konzentration 1:4 keine großen Veränderungen nachzuweisen gewesen. Festzustellen war, daß das Dichlordiäthylsulfid noch kürzere Zeit gebraucht hatte, um das letzte Bakterium abzutöten. In dieser Verdünnung war es wohl besonders leicht, in die Zelle einzudringen. Es ist sicher dieselbe Art des Angreifens wie bei der Konzentration 1:2. Nur hat das Benzol den Weg schneller vorbereiten können, da verhältnismäßig viel Benzolmoleküle die Bakterienwandung „sturmreif" machen. Dann kann das Lost mit seiner ganzen Kraft im Bakterienkörper seine Tätigkeit ausüben. Die einzelnen Veränderungen beim Wachstum auf der Platte hinsichtlich Goldglanzbildung werden wohl keine große Rolle in der Gesamtübersicht über die Wirkung des Kampfstoffes spielen. Eine erwähnenswerte Beobachtung, die eigentlich, streng genommen, nicht zum Thema gehört, machte ich, nachdem der zu allen Versuchen benutzte Coli-Stamm 4 Monate im Eisschrank gestanden hatte. Es hatte die Eigenschaft verloren, den typischen Goldglanz zu bilden. Erst nach längerem Umzüchten gelang es dann, diese Eigenschaft wieder zu wecken. Nun konnte man dazu übergehen, eine weitere Verdünnung für die nächsten Versuche herzustellen, und zwar benutzte ich 1:10.

1:10	Minuten					Stunden						
	1	3	5	15	30	1	2	3	4	5	6	7
D_1	+	+	+	—	+	—	—	+	+	—	—	—
D_2	—	—	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
D_3	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D_4	+	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—
D_5	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—
D_6	—	—	+	+	+	—	—	+[1]	—	—	—	—
D_7	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
D_8	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
D_9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
D_{10}	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—
D_{11}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D_{12}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

[1] Nach 24 Stunden Brutschrank.

Das allgemeine Bild zeigt eine Verlängerung der Einwirkung. Eine pedantische Regelmäßigkeit im Ausfall ist nicht eingetreten, war auch nach den ganzen Erfahrungen nicht zu erwarten. D_1 beginnt mit 1 Minute und läßt hier noch keine Wirkung erkennen. Nach 5 Minuten ist dasselbe Bild vorhanden. Dann kommt mit einem Male ein negativer Befund hinsichtlich des Wachstums. So geht es ungefähr weiter bis zu 4 Stunden. Von diesem Zeitpunkt ab ist ein endgültiges Absterben der Bakterien zu beobachten. Makroskopisch war zuerst nach 3 Minuten Einwirkung keine Trübung zu erkennen. Ein Tag später war das Versäumte nachgeholt. Solche Entwicklungshemmungen waren noch bei vier anderen Versuchen zu bemerken. Ein vollkommen anderes Bild ergab D_{11}. Kein Ausfall an der Besiedlung der Bouillon, sondern ein kontinuierliches Wachsen der Bakterien bis zur Einwirkung von 7 Stunden war die Folge.

Weitere Versuche waren nicht mehr nötig, obgleich eine endgültige obere Grenze noch nicht bestimmt war. Ein abschließendes Urteil über die ganze Versuchsreihe konnte schon nach 12 Ergebnissen gefällt werden. Alle erhaltenen Stämme wurden wiederum auf ihre Eigenschaften geprüft. Die Kohlehydrate wurde vergoren und gesprengt, während die alkalische Lackmusmolke durch die sauren Stoffwechselprodukte rot gefärbt wurde. Die Colikolonien auf der Endoplatte zeigten schwachen, aber deutlich erkennbaren Goldglanz. Dieser aber war nicht sofort aufgetreten. Nach 24 Stunden Brutschrank waren kleine, dichtstehende Kolonien gewachsen. Eine Weinblattform war noch nicht zu erkennen. Sie waren hellrot gefärbt und wiesen noch keinen Goldglanz auf. Auf der Kontrollplatte konnte man vielleicht eine Spur

erkennen. Diese Platten ließ ich nun 24 Stunden an der Luft stehen. Jetzt war der Goldglanz gut festzustellen. Aber außerdem waren die kleinen Kolonien noch gewachsen, und zwar in der für die Coli so typischen Weinblattform. Die Randzonen jeder Kolonien hatten die rote Farbe nicht übernommen, sondern waren schleimig entartet. Dadurch bekam die ganze Platte das Aussehen, als ob sie von einem weißen Wall umgeben war. Durch all diese Proben war eindeutig bewiesen, daß es wirklich die Colibakterien waren, die die Trübung der Bouillon hervorgerufen hatten. Eine Änderung in ihrem Verhalten war nicht eingetreten. Eine wichtige Tatsache läßt sich noch aus den Ergebnissen herauslesen: Das Dichlordiäthylsulfid gebraucht in dieser Verdünnung viel längere Zeit, um keimtötend zu wirken. Die Grenze liegt viel höher als bei 1:4. Sie nähert sich wieder dem konzentrierten Lost. Als Erklärung kann man folgendes anführen: Ein Bakterium gebraucht eine bestimmte Anzahl von Lost-Molekülen, um abgetötet zu werden. Auf dem Deckgläschen befindet sich aber eine ungeheuer große Menge von Bakterien. Hierfür ist dann noch eine größere Anzahl von Molekülen notwendig, die in der Verdünnung 1:10 nicht mehr vorhanden sind. Dadurch bleibt einigen Bakterien die Lebensfähigkeit erhalten, was sich nachher in der starken Zellteilung und Trübung der Bouillon ausdrückte. Auf Grund dieser Ergebnisse wurde noch eine neue Konzentration ausprobiert. Die neue Versuchsreihe ist in der Verdünnung 1:50 angesetzt.

1:50	Minuten					Stunden								
	1	3	5	15	30	1	2	3	4	5	6	7	8	9
E_1	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
E_2	+	+	+	+	+	—	+	+	+					
E_3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
E_4	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+				
E_5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
E_6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
E_7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
E_8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
E_9	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—	+
E_{10}	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—	—	+

Zum ersten Male ist aus der Tabelle herauszulesen, daß eine Abtötung der Bakterien im Laufe der verwandten Zeit nicht mehr beherrscht werden kann. Das Bakterium hat die Ueberhand gegenüber dem Lost gewonnen. Es ist eine ziemliche Konstanz in den Ergebnissen zu beobachten. Wenn auch innerhalb der großen Anzahl der Versuche hin und wieder

das Wachstum ausgeblieben ist, so besagt das keine grundsätzlichen Abweichungen von der Norm. Dies ist, wie so vieles, auf die Labilität und Unbeständigkeit der Coli zurückzuführen. Waren die Coli auch immer labil in ihrem Verhalten zum Dichlordiäthylsulfid, so waren sie doch äußerst konstant in der Erhaltung ihrer Eigenschaften. Eine Prüfung der Beweglichkeit wurde im hängenden Tropfen vorgenommen. Auf den ersten Blick war nur eine eifrige Eigenbewegung zu beobachten. Bei längerer Beobachtung war außerdem noch eine leichte Richtungsbewegung erkennbar. Sie war aber nur sehr schwach, so daß wir diesen Stamm unter die Gruppe der schwach beweglichen Coli zu rechnen haben. Wurden nun die behandelten Bakterien ebenfalls im hängenden Tropfen betrachtet, so war auch hier die sehr schwache Bewegung vorhanden. Diese war also trotz der Lostbehandlung erhalten geblieben. Die anderen Proben fielen, wie erwartet, positiv aus. Nun bleibt nur noch eine Beschreibung der Endoplatten. Man sah einige Platten mit kleinen Kolonien; der Fuchsinglanz war nur schwach ausgebildet. Auf anderen wiederum waren die Kolonien größer und zum Teil zusammengelaufen, aber auch mit schwachem Goldglanz. Noch andere, zum Beispiel die Platten der Reihe E_6, zeigten folgendes Bild: Die Keime waren noch nach 24 Stunden normal gewachsen mit einem schwachen Goldglanz. Diese Platten ließ ich einen Tag außerhalb des Brutschrankes stehen. Dann war eine Entfärbung der Randzonen eingetreten. Jede Kolonie hatte ein rotes Zentrum und einen stark ausgebildeten Schleimrand. Die Entfärbung und die Schleimbildung war bei den einzelnen Platten der Reihe verschieden stark ausgefallen, was aber selbst auf keinen pathologischen Vorgang innerhalb der Zelle schließen läßt. Durch diese Reihe kann ich wieder eine Bestätigung meiner Annahme erblicken, die sagt, daß auf jedes Bakterium eine gewisse Anzahl von Lostmolekülen gehört. War es bei den vorigen Versuchen den wenigen Molekülen noch gelungen, innerhalb einer verhältnismäßig kurzen Zeit den Verlust auszugleichen, so reicht jetzt auch die Zeit nicht mehr, die verminderte Molekülzahl zu ersetzen. Vor allen Dingen sind die 9 Stunden auch nicht mehr in der Lage, da dazu noch die fünfmal stärkere Verdünnung kommt. Die Einwirkung noch weiter auszudehnen, war für die Erkennung der Versuche nicht notwendig, weshalb man zur nächsten Reihe in der Konzentration 1:100 überging:

1:100	Stunden															Tage	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	15	17	19	21	24	2	3
F_1	+	—	+	+	+	+	+	+	+								
F_2	+	+	+	+	+	+	+	+	+								
F_3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+			
F_4	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—			
F_5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+				
F_6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+				
F_7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
F_8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
F_9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—
F_{10}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—

Bei dieser Reihe genügten schon die kurzen Stundenversuche nicht mehr, um die Abtötung zu erhalten. Jetzt mußte man das Lost bereits mehrere Tage einwirken lassen, damit eine Schädigung der Keime eintreten konnte. Bei den beiden ersten Versuchen wurde zur Kontrolle noch die minutenlange Einwirkung geprüft, die selbstverständlich keine Abtötung zur Folge hatte. Aus dem Grunde sind in den folgenden Kontrollen die Minuten ausgelassen und gleich mit einer Stunde angefangen. Aus der Tabelle ist deutlich zu entnehmen, wie ein Herantasten an die obere Grenze notwendig war. Die beiden ersten Reihen ergaben eine deutliche Trübung der Bouillon bis nach 9 Stunden. Der zu erhaltende Wert mußte also über dieser Zeit liegen. Dann wurde die Einwirkung bis auf 21 Stunden ausgedehnt. Das Ergebnis war aber negativ ausgefallen. Der Wert bei 21 Stunden konnte auf einen Versuchsfehler zurückzuführen sein. Deshalb kam die Meinung auf, zwischen 9 und 21 Stunden sei die Grenze zu suchen. Das Ergebnis gibt F_3 und F_4 wieder. Bis zu 19 Stunden war wieder alles bewachsen, und das bewachsene Röhrchen nach 21 Stunden Einwirkung bei F_3 war nicht mehr als Versuchsfehler zu beurteilen. Man mußte nun weitergehen. Sogar 2 Tage hatten die Coli überstanden. Jetzt kam es darauf an, ob bei 3 Tagen noch Leben der Bakterien festzustellen war. Da hatte das Lost scheinbar endgültig seine Wirkung ausschöpfen können, so daß nunmehr die Trübung der Nährbouillon ausblieb. Demnach ist die Grenze der Einwirkung auf 2 Tage anzunehmen. Bei allen gemachten Versuchen mußte anschließend die Prüfung der Eigenschaften vorgenommen werden. Herausgreifen möchte ich nur F_3. Die Kontrollplatte zeigt im allgemeinen kleine Kolonien in typischer Anordnung. Ueber dem Ganzen liegt der Goldglanz verteilt. Eine deutliche Schleimbildung ist bei den randständigen Kolonien nicht zu erblicken. Die erste Versuchs-

platte zeigt, daß die Hauptmasse der Kolonien zusammengelaufen ist. Bei allen ist der Goldglanz festzustellen. Die Teile der Peripherie sind aber jetzt größer als beim Kontrollversuch. Sie sind schwach rötlich gefärbt. Eine Entfärbung hat noch nicht stattgefunden. Jede einzelne Kolonie hat vollständigen Goldglanz. Ein schmaler Saum von Schleimbildung umrahmt jede. Etwas anders wurde das Bild bei der nächsten Platte: Die Unterschiede zum Kontrollversuch werden größer, die schleimige Randzone wird breiter und die Entfärbung noch deutlicher. Jede Kolonie hat einen deutlich rot gefärbten Mittelpunkt mit Goldglanz. Bei den weiteren Platten wird der Fuchsinglanz immer mehr auf das Zentrum der einzelnen Kolonie zurückgedrängt; auch werden die Schleimzonen immer deutlicher, je länger die Einwirkungszeit des Lost war. Die Platten wurden nun 24 Stunden an der Luft gelassen. Dabei hatte die Entfärbung und Schleimbildung zugenommen, so daß bei der 9-Stunden-Platte kaum noch etwas von Rotfärbung und Goldglanzbildung festzustellen war. Andere Versuchsreihen hatten ein ähnliches Ergebnis.

Abgeschlossen wurde die Arbeit mit den Versuchen der Konzentration 1:500.

1:500	Stunden									Tage						
	1	2	3	4	5	6	7	8	21	1	2	3	4	5	6	7
G_1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—		
G_2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—			
G_3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
G_4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—			
G_5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—			
G_6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+		
G_7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—		
G_8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—		
G_9	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—		
G_{10}										+	+	+	+	+	+	+
G_{11}										+	+	+	+	+	—	—
G_{12}										+	+	+	+	+	+	—

Die Einwirkungszeit unter 1 Stunde wurde fortgelassen, da die Versuche endgültig ergeben hatten, daß eine Behandlung unter 1 Stunde unwirksam ist. Die Konzentration 1:500 gebrauchte, wie es nicht anders zu erwarten war, eine größere Durchschnittszeit zur Abtötung aller Keime. Bis zu 1 Tag verhalten sich die 12 Versuche gleich, das heißt: eine Schädigung der Lebensfunktionen in dieser Zeit ist noch nicht eingetreten. Die weitere Entwicklung weist dann einige Unterschiede auf.

Nach 48 Stunden war in 10 Fällen noch Leben,
nach 72 Stunden war in 8 Fällen noch Leben,
nach 96 Stunden war in 4 Fällen noch Leben,
nach 120 Stunden war in 5 Fällen noch Leben.

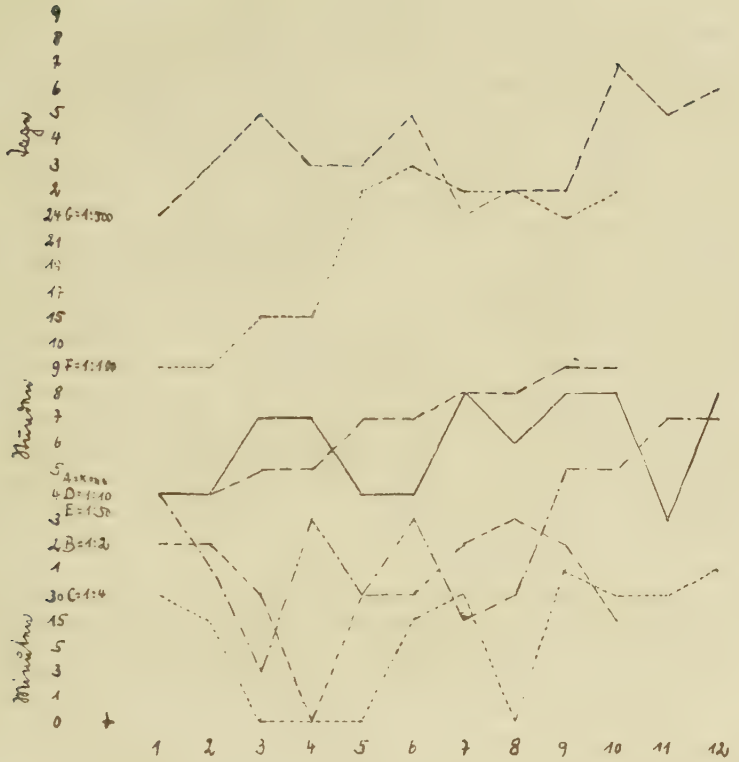
Über 5 Tage liefern nur noch 3 Versuche, von denen G_{10} noch bei 7 Tagen ein Leben der Keime zeigte. Bei längerer Beobachtung der Röhrchen veränderten sich die Zahlen nicht mehr. Eine allzu genaue abgrenzbare Wirkungszeit nach oben ist unwichtig. Für die Gesamtbeurteilung genügt, daß bei 6 Tagen das Leben aller Bakterien nicht abgestoppt war. Diese Zeitspanne hat sich im Verhältnis zu F (1:100) um mindestens 5 Tage vergrößert. Zum Schluß wurden dann die Coli noch auf ihre Eigenschaften untersucht. Durch Färbung wurden Gram-negative Stäbchen festgestellt. Die genaue Bestimmung der Gattungszugehörigkeit wurde dann wieder durch die verschiedenen Vergärungsarten vorgenommen. Zur „bunten" Reihe nahm man ergänzend noch das Verhalten zur Milch hinzu. Da fand sich auch eine Vergärung. Die Endoplatte hatte keine Abweichungen von dem unbehandelten Kontrollstamm. Es hatten sich weinblattförmige, kleine Kolonien mit Fuchsinfarbe entwickelt. In der Beweglichkeit zeigte sich im hängenden Tropfen keine Einschränkung. Man mußte also auch hier zu dem Ergebnis kommen, daß eine Coliumstimmung nicht stattgefunden hatte.

Zur Ergänzung der Versuche machte man noch folgendes: Als Abspülflüssigkeit verwandte man Benzol. Da es nun leicht möglich war, daß durch das Abspülen die Bakterien vom Deckglas abgeschwemmt werden konnten, überimpfte man von diesem Benzol eine Platinöse auf Nährbouillon. Das gleiche machte man mit dem Lost, in welchem die Deckgläschen auch längere Zeit gelegen hatten. Das Ergebnis war bei beiden negativ. Eine Abschwemmung hatte also nicht stattgefunden.

Zusammenfassung.

Zur besseren Übersicht ist die nebenstehende Kurventabelle angefertigt. Zur Erklärung dient folgendes: Auf der Abzisse ist die Anzahl der Versuche angegeben, während die Ordinate die mannigfaltigen Einwirkungszeiten zeigt. Diese ist nun im Verlauf nach oben nicht mehr maßstabgerecht, sondern weist eine Zusammendrängung auf. Das macht sich insofern bemerkbar, daß die Kurvenpunkte steiler auseinanderliegen müssen. Jeder einzelne Kurvenpunkt gibt das letzte beobachtete Wachstum des betreffenden Versuchs an. Greifen wir nun zum Bispiel A_5 heraus: Wir finden in der Tabelle die letzte Trübung bei 4 Stunden. Das ist dann auf der Ordinate bei Versuch 5 eingetragen. Genau so verhält es sich mit den anderen Punkten. Die Kurve für das konzentrierte Lost hat einen ziemlich weiten Spielraum. Eine Durchschnittslinie könnte man bei 6 Stunden annehmen. Für die Verdünnung 1:2 liegt die Kurve schon bedeutend tiefer. Sie berührt sogar einmal den Nullpunkt. Der Durchschnittswert wäre 1,27 Stunden. Noch tiefer geht der Wert für 1:4, wofür 0,6 Stunden anzunehmen wäre. Die tiefe Zahl ist in dem mehrmaligen Berühren des Nullpunktes zu suchen. Jetzt ist ein Ansteigen zu beobachten mit der Konzentration 1:10 mit dem mittleren Wert von 3,2. Der Beginn der Kurve ist der gleiche wie beim konzentrierten Lost. Im allgemeinen liegen die Werte aber doch noch tiefer. Für 1:50 ist der Durchschnittswert mit 6,6 Stunden berechnet und zeigt damit ein weiteres Ansteigen bis über den normalen Wert an. Dieser ist nun noch stärker bei 1:100 mit einer mittleren Zahl von 28,8 Stunden.

Noch höher geht es mit 3,5 Tage für 1:500. Es muß davor gewarnt werden, diese Durchschnittszahlen als praktisch verwertbare Werte hinzunehmen. Sie sollen ein allmähliches Absinken der Lebensdauer und dann das schubweise Ansteigen darstellen. Aus diesem Grunde sollen sie nur einen theoretischen Wert haben. Bevor der Wirkungsmechanismus für das Dichlordiäthylsulfid erklärt wird, muß zum Vergleich



die Wirkung des Desinfektionsmittels herangezogen werden. Nach Bürgi und Laubenheimer (6) schließt der Begriff „Desinfektion" alles das ein, was die Infektion beseitigt. Deshalb gehören alle chemischen Mittel zu den desinfizierenden Substanzen, die das infizierende Agens vernichten. Im Verlaufe der vielen vorgenommenen Versuche hat sich immer wieder eine abtötende Wirkung des Dichlordiäthylsulfids herausgestellt. Demnach kann man auch diesen Stoff unter den großen Sammelbegriff der Desinfektionsmittel setzen. Die gleichen Gesetze und Reaktionen gelten darum auch für ihn, wie man sie für die Desinfizien aufgestellt hat. Abgrenzen kann man diejenigen, die nur eine Hemmung hervorrufen. Letzten Endes gehören auch die abtötenden Mittel in stark verdünnten Lösungen hierzu. Da die Bakterien lebende

Organismen sind, spricht man von allgemeinen und spezifischen Zellgiften. Man hat auch den Ausdruck Protoplasmagift geprägt. Pharmakologisch versteht man darunter eine Substanz, die das Protoplasma schädigt, ohne sichtbare Veränderungen zu hinterlassen. Bei dieser Schädigung könnte man mit Bürgi und Laubenheimer (6) mehrere Fragen aufwerfen. Sie fragen sich, ob der Vorgang der Abtötung einer chemischen Reaktion gleicht oder ob dabei physikalische Momente mitspielen. Den chemischen Vorgang hat eine Anzahl von Forschern in dem Satz ausgedrückt: „Die Desinfektion geht nach der Gleichung einer monomolekulären Reaktion vor sich." Bei einer monomolekulären Reaktion erleidet ein Molekül eine Umsetzung. Der unveränderliche Stoff ist meistens in einem Übergewicht vorhanden. Im Desinfektionsvorgang würde dies das desinfizierende Agens sein, in unserem Falle also das Dichlordiäthylsulfid. Ficker (6) hat herausgefunden, daß die Zahl der Bakterien den Abtötungsvorgang stark beeinflußt. Demnach ist eine große Anzahl von Keimen schwerer zu vernichten bei der gleichbleibenden Konzentration als eine kleine. Bei einer Suspension, wie sie in meinen Versuchen verwandt wurde, muß man mit diesen Feststellungen rechnen. Beim Dichlordiäthylsulfid kann man nun folgendes Ergebnis zusammenfassen: Wegen der schweren Umspülbarkeit der Bakterien durch das Lost ist es erst nach mindestens 4 Stunden dem Stoff möglich, in die Zelle einzudringen. Ob das Gift nun in der Zellmembran liegen bleibt und diese dann undurchlässig macht und damit den weiteren Stoffwechsel stört, ist nicht mit Sicherheit klarzulegen. Eine partielle Durchtränkung würde den Stoffwechsel nur teilweise beeinflussen und das Bakterium noch lebensfähig erhalten. Dafür könnte das Leben bei den kürzeren Einwirkungszeiten sprechen, da die Membran noch nicht ganz durchdrungen ist. Aber ein anderer Faktor spricht noch mit. Das Gift braucht nun nicht an der Membran haltzumachen, sondern wandert weiter in die Zelle und geht dort mit den Zellbestandteilen eine Verbindung ein. Diese kann im Anfang noch reversibel sein und wieder rückgängig gemacht werden. Bei längerem Bestehen wird sie irreversibel und schließt die betreffenden Protoplasmateile für das weitere Zelleben aus. Es ist gut verständlich, daß beide Vorgänge beim Lost die Wirkung ausmachen. Die Verdünnung 1:2 gibt dann andere Verhältnisse. Durch das Lösungsmittel Benzol ist eine bessere Benetzbarkeit der Bakterien gegeben. Das

Benzol bereitet dem Lost den Weg in die Zelle vor. In dieser Konzentration sind noch genug Moleküle des Lost vorhanden, um sämtliche Zellmembranen zu durchsetzen. Wiederum wird der Stoffwechsel gestört. Das „Desinfizienz" wandert nun weiter in den Zellkörper ein und stellt dort wieder die reversible bzw. irreversible Verbindung her. Die Flüssigkeit ist aber noch zu ölig, um in kürzester Zeit zu wirken. Dieses Moment finden wir bei einer noch stärkeren Verdünnung 1:4. Es sind hierbei die gleichen Vorgänge wie die schon besprochenen. Nur geht alles in einer schnelleren Zeit vor sich. Bei 1:10 kommt die schon von mir erwähnte Molekularverminderung in Betracht. Im ersten Augenblick reichen die Moleküle aus, um die Membranen abzuschließen und einen Teil des Plasmas zu verändern. Durch die längere Einwirkung wird dann das Endresultat, die Abtötung, doch noch erreicht. Dasselbe Spiel wiederholt sich bei allen von mir verwandten Konzentrationen. Nur muß entsprechend der verminderten Lost-Moleküle die Einwirkungsdauer länger sein, um den irreversiblen Zustand in der Zelle hervorzurufen. Zuletzt könnte noch eine Erklärung für das unregelmäßige Absterben der Keime gegeben werden. Eijkmann (6) hat eine genaue Kurve entwickelt, die eine ∼-Figur hat. Solche Kurven entstehen immer dann, wenn die zerstörenden Mittel auf Bakterien von geringer, mittlerer und starker Widerstandskraft treffen.

In einer Aufschwemmung sind alle drei Typen vorhanden. Bei einer Anzahl von a-Bakterien sollen sich, nach Bürgi und Laubenheimer, nach n-Generationen $2^n - 1$ a-Individuen in dem Nährmedium befinden. Es teilen sich aber nicht immer alle, so daß von jeder Generation einige vorhanden sein werden. Bei einem gewissen Generationsalter steigt die Widerstandsfähigkeit. Vielleicht genügt für die empfindlichen Bakterien schon die Durchtränkung der Zellmembran, um die Zelle für das weitere Leben auszuschließen. Dadurch werden die Lostmoleküle frei, die eine stärkere Zelle gebraucht. Auf diesem Wege läßt sich dann der abgestufte Absterbevorgang erklären.

Zuletzt bliebe noch eine Verwertung der teilweisen Veränderungen auf der Endoplatte. Rückblickend läßt sich sagen, daß diese zu gering waren, um für den Wirkungsmechanismus erklärend zu sein. Wie ich schon früher erwähnte, genügt ein nicht genau eingehaltener p_H-Wert für diese Erscheinungen. Sie sind zu gering und in allen Versuchen wohl

nicht auf die Wirkung von Lost zurückzuführen. Dadurch hätte sich eine viel stärkere Veränderung ergeben müssen. Aber Protoplasmagifte brauchen ja keine sichtbaren Schäden zu hinterlassen.

Durch die vorgenommenen Versuche habe ich versucht, einen kleinen Beitrag zur Erklärung des Wirkungsmechanismus des Dichlordiäthylsulfids auf die Bakterien zu geben. Inwieweit die Ergebnisse auf das menschliche Gewebe zu übertragen sind, bleibt noch weiteren Versuchen überlassen.

Für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit spreche ich Herrn Oberfeldarzt Dr. Muntsch meinen verbindlichsten Dank aus.

Schrifttum.

1. Jackson: ß,ß'-Dichloräthylsulfid. In Chemikal Review, Dezemberheft 1934.
2. Muntsch: Leitfaden der Pathologie und Therapie der Kampfstofferkrankungen. Thieme, Leipzig 1936.
3. Flury und Zernik: Schädliche Gase. Springer, Berlin 1931.
4. Starkenstein: Gase und Dämpfe. In Starkenstein, Rost und Pohl: Toxikologie. Urban & Schwarzenburg, Berlin 1929.
5. Nißle: Die Colibakterien und ihre pathogene Bedeutung. In Kolle, Kraus und Uhlenhut: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 6. Band, 1. Teil, Jena 1929.
6. Bürgi und Laubenheimer: Desinfektions- und Sterilisationslehre, 2. chemischer Teil. In Kolle, Kraus und Uhlenhut: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 3. Band, 2. Teil, Jena 1931.
7. Heim: Lehrbuch der Bakteriologie. Enke, Stuttgart 1922.
8. Lehmann und Neumann: Atlas und Grundriß der Bakteriologie, Teil 2, Text. Lehmann, München 1920.
9. Hettche und Rosenthal: Vergleichende Untersuchungen über die bakterizide und entwicklungshemmende Wirkung von ätherischen Ölen. Arch. Hyg. 115, 303. München 1936.
10. Hanne: Ein Wort zu der Frage der Prüfung von Desinfektionsmitteln. Zbl. Bakter. 137, Jena 1936.